

# 子宮内膜症の発症および 増悪因子に関する研究

－子宮内膜間質細胞培養系を用いて－

---

大学院医学研究科 外科系専攻  
(産科婦人科学)

柳原 仁

主科目担当

および 荻田幸雄 教授

研究指導

---



①  
子宮内膜症の発症および  
増悪因子に関する研究

— 子宮内膜間質細胞培養系を用いて —

大学院医学研究科 外科系専攻  
(産科婦人科学)

柳原 仁

主科目担当

および 荻田幸雄 教授

研究指導



## 諸言

子宮内膜症は子宮内膜組織が異所性に発生し、増殖する疾患であり、臨床症状としては月経痛、性交時痛、不妊症などをきたす産婦人科領域においては最も多い疾患の一つである。しかしながらその発症、増悪の機序についてはいまだ明らかにされていない。

発生機序についてはMeyerらが提唱する体腔上皮化生説とSampsonによる播種説が有力とされているが(1)、どちらの説も本症の発症を十分に説明し得るものではない。

本症は子宮から他臓器へ移植、増殖するという、腫瘍的な性質から発症の過程に癌転移に類似した機構の存在が示唆される。そこで本研究は、癌転移の際に浸潤因子として働くことが近年注目されているmatrix metalloproteinase (MMP) に注目し(2~11)、子宮内膜症病変におけるMMPの発現の有無を検討した。

また子宮内膜症患者腹水中に増加する、macrophage colony-stimulating factor (M-CSF) (12) やInterleukin-1 (IL-1)



(13)、Tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (14)、Transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) (15) などの各種サイトカインが子宮内膜間質細胞におけるin vitroでのMMP産生に与える影響につき検討し、子宮内膜症患者の腹腔内環境が子宮内膜組織の浸潤を促進するか否かを検討した。

さらに各種CSFについては子宮内膜症の増悪因子となり得るか、またその子宮内膜間質細胞の増殖に与える影響を検討した。



## 方法

### 1) .子宮内膜症組織におけるMMPの局在の証明

当科において摘出された腸管子宮内膜症のホルマリン標本をPAP Kit (DAKO社) を用い、抗ヒトMMP-1マウスモノクローナル抗体(富士薬品工業、富山)にて、免疫組織学的染色を行った。

### 2) .子宮内膜間質細胞におけるMMP産生に与える各種サイトカインの影響の検討

子宮筋腫や子宮内膜症などの良性疾患のために摘出された子宮から患者の同意の下に子宮内膜組織を採取し、血液成分を取り除いた。得られた組織を0.25%タイプIコラゲナーゼ

(Sigma, St. Louis, MO) 含有Ham's F-10カルチャーメディアウム(Gibco, Grand Island, NY)にて、37℃、15分間処理し、上皮細胞と間質細胞の分離を光学顕微鏡にて確認の後、500rpm、5分間遠沈した。上清を1500rpm、10分間再度遠沈し、得られた沈渣を100 U/ml ペニシリンG(明治製薬、東京)、100  $\mu$ g/ml ストレプトマイシン(明



治製菓)、 $0.25\text{ }\mu\text{g/ml}$  アムホテリシンB(三共、東京)、10%牛胎仔血清(Gibco)含有Ham's F-10カルチャー メディウムに懸濁し38ミクロン マイクロ シーヴェ(東京スクリーン、東京)を通過させる。細胞浮遊液を10cmカルチャー ディッシュ(住友ベークライト、東京)で $37^{\circ}\text{C}$  5%  $\text{CO}_2$ にて30分間培養した。この上清を捨て、新しいメディウムで洗浄して付着細胞を得た。得られた細胞は免疫組織学的染色により、抗サイトケラチン抗体陰性、抗ビメンチン抗体陽性であり、子宮内膜間質細胞であることを確認した。子宮内膜間質細胞は $37^{\circ}\text{C}$  5%  $\text{CO}_2$ にて5~7日間培養しコンフレントの形成を確認する(16、17)。コンフレント形成の後、24穴カルチャー ディッシュ(住友ベークライト)にサブカルチャーした。数日間の培養の後、コンフレントの形成を確認し、培養液を捨て、PBS(Gibco)で洗浄し、培養液を牛胎仔血清不含有のものと置換した。1mlの培養液中にG-CSF(キリン、東京)5、50、500 ng/ml、M-CSF(森永、東京)5、50、500 U/ml、IL-1- $\beta$ (大塚製薬、東京)



1、5、10 U/ml、TNF- $\alpha$  (R & D Systems, Minneapolis, MN) 1、5、10 ng/ml、TGF- $\beta$  (Biomedical Technologies, Stoughton, MA) 1、5、20 ng/mlを添加し4日間培養を行った。その後、培養上清を採取し、上清中のMMP-1、MMP-2濃度をそれぞれ血清中ヒト間質型コラゲナーゼ (MMP-1)測定用キット(富士薬品工業)、血清中ヒト72kDaゼラチナーゼ (MMP-2)測定用キット(富士薬品工業)を用い、EIA法にて測定した(18、19)。また各ディッシュ中の細胞をトリプシン-EDTA (Gibco)にて剥離し、電子細胞計数機 (Coulter社)を用いて細胞数を計測し、単位細胞数あたりのMMP-1、MMP-2産生量を求めた。

### 3) .各種CSFの子宮内膜間質細胞の増殖に与える影響の検討

培養子宮内膜間質細胞を96穴マイクロプレート (BECTON DICKINSON, Lincoln Park, NJ) に20,000 cells / 200  $\mu$ l / wellの細胞濃度でサブ



カルチャーし、24時間の培養の後に培養液と浮遊細胞を捨て、10%牛胎仔血清を含むHam's F-10培養液を加えた。培養液中に10,000、1,000、100 IU/mlのM-CSF、500、50、5 ng/mlのG-CSF、200、20、2 ng/mlのGM-CSF（中外製薬、東京）をそれぞれ加え、セミオートマチックセルハーベスター（Labo Science, 東京）を用い24、48、72時間培養を行った。そして培養0、24、48時間目に1  $\mu$  Ci/wellの $^3$ H-thymidine（Du Pont, Wilmington, DE）を加え、24時間後に0.2% EDTAを加え細胞を剥離し、ミリポアフィルター（pore size 1.2  $\mu$ m, filter size 25 mm, Millipore Co.）上に集め30 mlの生理的食塩水、および氷冷5%三塩化酢酸で洗浄した。このミリポアフィルターを乾燥後scintillation vialの管底に沈め、5 mlのscintillator（DPO 4 g POPOP 100 mgをscintillation tolueneで1.01に調整）を加えliquid scintillation counter（Beckman Fullerton, CA）を使用し、酸不溶性分画に取り込まれた $^3$ H-thymidineの放



射活性を測定し、それをDNA合成能(cpm)として評価した(16、17、20)。

#### 4) .培養子宮内膜間質細胞のM-CSFレセプターの免疫組織学的染色

正常婦人および子宮内膜症患者由来の子宮内膜間質細胞をアセトン固定の後、ヒストファインSAB-PO Kit (Nichiley, Tokyo)を用い、M-CSFレセプターに対する抗体であるラットanti-c-fms / CSF-1モノクローナル抗体 (Oncogene Science, Uniodale, NY)にて免疫組織学的染色を行った。

#### 5) .統計学的検討

子宮内膜間質細胞のMMP-1、MMP-2産生に与える各種サイトカインの影響は、細胞 $10^4$ 個あたりのMMP産生量を、サイトカイン無添加でのMMP産生量と比較し、その増加率で検討した。有意差検定には、Wilcoxon Signed-Ranks Testを用いた。なお、得られた成績はすべてMean $\pm$ SEMで示



し、 $p < 0.05$ 以下を有意差ありとした。

子宮内膜間質細胞の増殖に与えるCSFの影響はCSF無添加と添加時のcpmの比較をStudentのt-testを用いて有意差検定を行い、 $p < 0.01$ をもって有意差ありとした。



## 結 果

### 1) .子宮内膜症組織のMMP-1染色

腸管子宮内膜症病変の抗ヒトMMP-1マウスモノクローナル抗体による免疫組織学的染色を行うと、内膜腺および間質において、正常間質部分に比べ強い褐色の染色を認めた。このことより子宮内膜症病変においてMMP-1が発現していることが確認された。(Fig. 1)

### 2) .子宮内膜間質細胞培養系におけるMMP産生に与える各種サイトカインの影響

子宮内膜間質細胞におけるサイトカイン無添加でのMMP-1産生量は平均 $8.67 \text{ ng} / 10^4 \text{ cell}$ であった。

サイトカイン無添加と比較し、G-CSF、M-CSF添加系ではすべての濃度でMMP-1産生量に有意な変化を認めなかった。(Fig. 2)

一方、IL-1添加系では $5 \text{ U} / \text{ml}$ 、 $10 \text{ U} / \text{ml}$ の添加により2.1倍、2.9倍と有意にMMP-1産生の増加を認めた。TNF- $\alpha$ 添加系では1、5、 $10 \text{ ng} / \text{ml}$



のすべての濃度でMMP-1産生量は有意に増加し、  
10 ng/mlの添加では7.77倍の増加を認めた。

TGF- $\beta$ 添加系では1、5 ng/mlの添加により  
MMP-1産生量は有意に増加し、5 ng/mlの添加に  
より3.08倍の増加を認めた。(Fig. 3)

サイトカイン無添加でのMMP-2産生量は平均  
14.88 ng/ $10^4$  cellであった。

サイトカイン無添加と比較し、G-CSF、M-CSF  
添加系ではすべての濃度でMMP-2産生量に有意な  
変化を認めなかった。(Fig. 4)

一方、IL-1添加系ではMMP-1の場合と異なり  
すべての濃度でMMP-2産生量の変化を認めなかつ  
た。TNF- $\alpha$ 添加系では5 ng/ml, 10 ng/mlの濃  
度で1.95倍、2.60倍と有意にMMP-2産生量は増  
加した。TGF- $\beta$ 添加系では1、5、20 ng/mlのす  
べての濃度でそれぞれ4.57倍、3.81倍、4.53倍  
と有意にMMP-2産生量の増加を認めた。(Fig. 5)

3) .子宮内膜間質細胞の増殖に与える各種CSFの  
影響



正常婦人の子宮内膜間質細胞における $^3\text{H}$ -thymidineの取り込みは、M-CSFの10,000 IU/ml、1,000 IU/ml、100 IU/mlの添加、GM-CSFの200 ng/ml、20 ng/ml、2 ng/mlの添加により有意な変化を認めなかった。しかしG-CSFの添加では500 ng/ml、50 ng/ml、5 ng/mlのすべての濃度で $^3\text{H}$ -thymidine取り込みは1.17～1.24倍と有意に増加し、500 ng/mlの濃度で最も大きな効果が得られた。(Fig. 6) 子宮内膜症患者の子宮内膜間質細胞における $^3\text{H}$ -thymidineの取り込みは、G-CSF、M-CSFの添加によりすべての濃度で有意に増加し、G-CSFでは1.14～1.28倍、M-CSFでは1.23～1.32倍に増加した。G-CSFでは500 ng/mlの添加で、M-CSFでは1,000 IU/mlの添加で最大の効果が得られた。(Fig. 7)

4) . 正常婦人子宮内膜間質細胞と子宮内膜症患者  
子宮内膜間質細胞のM-CSFレセプターの免疫組織  
学的染色



子宮内膜症患者子宮内膜間質細胞は正常婦人の内  
膜間質細胞に比べ、anti-c-fms / CSF-1 レセプタ  
ー抗体により細胞質が強く褐色に染色され、M-  
CSF レセプターが発現していることが認められた。  
(Fig. 8)



## 考 察

MMP (matrix metalloproteinase) は生体内のほとんどすべての細胞外マトリックスを分解する一群の酵素であり、癌細胞が結合組織内の毛細血管やリンパ管内に浸潤する際や、逆に血管内、リンパ管内の細胞が末梢組織に浸出するとき、基底膜や結合組織の構成蛋白を分解し、癌の浸潤、転移を導くとされている(3)。MMPは各種の癌細胞や間質細胞などから産生されることが報告されており、その酵素活性と癌の浸潤、転移能がよく相関すると報告されている(5、6、21、22)。現在までに8種類のMMPの存在が確認されており、それぞれが間質型コラーゲンやゼラチン、ラミニン、フィブロネクチンなど各種の細胞外マトリックス構成成分を分解することが知られている。

今回検討したMMP-1 (コラーゲナーゼ) は最も古くから知られているMMPであり、各種癌細胞や繊維芽細胞、軟骨細胞などで分泌されることが知られている。MMP-1は間質型コラーゲンを1/4と3/4の長さに切断するほか、ゼラチン、フィブロネクチン、



フィブリノーゲンなどを分解することが明らかにされている。MMP-2（ゼラチナーゼA）は間葉系、上皮系の細胞から広く分泌され、ゼラチン、IV型基底膜コラーゲンを分解することが知られている。さらにVassalliらの報告によると間質細胞から分泌されたMMP-2前駆体は癌細胞表面のMMP（MT-MMP）により活性化され細胞外マトリックスを分解し、癌細胞の浸潤過程において大きな働きをすると言われている（9）。また、各種MMPの合成、分泌はIL-1、TGF- $\beta$ などの各種サイトカインにより調節されている。しかしその効果は細胞の種類やMMPの種類により大きく異なり一定ではない（23、24、25、26）。

最近、子宮内膜間質細胞や子宮内膜上皮細胞において各種MMPが産生されることが報告されており、月経周期にともなう子宮内膜の脱落や、受精卵の着床機序に関連して注目されている（27）。

子宮内膜症との関連については、子宮内膜症患者腹水中より細胞外マトリックスの成分であるType III コラーゲンの前駆体のType III プロコラーゲン



を測定した実験結果から、子宮内膜症患者では細胞外マトリックスの分解が起こり、内膜組織の浸潤が生体内で生じていることが報告された(28)。

そこで子宮内膜症組織における、細胞外マトリックスを分解するMMPの発現を病理学的に明らかにするため、抗MMP-1抗体を用い免疫組織学的染色を行った。すると子宮内膜症病変において腺および間質にMMP-1の発現を認められたが、このことは内膜症病変においては生体内で実際にMMPによる細胞外マトリックスの分解、内膜組織の浸潤過程が働いていることを示唆するものであった。

一方、体液性因子として、これまでに子宮内膜症患者腹水中にマクロファージやM-CSF、IL-1、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$ などの各種サイトカインが増加していることは報告されており(12、13、14、15)、これらのサイトカインによるナチュラルキラー活性の低下(29)や血管新生作用(30)などが子宮内膜症の発症、増悪につながるものと考えられている。さらに今回、子宮内膜間質細胞におけるMMP産生についても、これらのサイトカインが影響



を及ぼすか否かを検討したが、子宮内膜間質細胞における MMP-1 産生量は IL-1、TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$  により増加し、MMP-2 の産生量は TNF- $\alpha$ 、TGF- $\beta$  により増加した。この成績は、子宮内膜症患者腹水中に増加しているこれらのサイトカインにより、腹腔内の異所性子宮内膜組織において MMP 産生量が増加し、細胞外マトリックスの分解が生じ、子宮内膜組織が子宮外臓器に生着、浸潤していくものと考えられた。

現在のところ、子宮内膜症患者における腹水中マクロファージや各種サイトカインの増加が、本疾患の原因か結果であるかは明らかではない。しかし、月経にともなう子宮内膜組織の逆流や、ウィルス、細菌感染、精子、精液の侵入、さらに子宮内膜症病変それ自体が刺激となり、腹水中のマクロファージや各種サイトカインの増加をもたらす可能性が高い。

また、子宮内膜症組織の増殖に関しては、今回の検討では正常婦人の子宮内膜間質細胞の増殖は G-CSF により、子宮内膜症患者の子宮内膜間質細胞の増殖は G-CSF、M-CSF により促進する結果が得ら



れた。HammondらはIL-1もまた子宮内膜間質細胞の増殖を促進することを報告している(17)。これらのことより子宮内膜症患者においては、腹水中に増加している各種サイトカインにより子宮内膜症組織が浸潤、増殖し、さらにその子宮内膜症病変による刺激によりサイトカインが増加する、一種の悪性循環の存在が示唆される。

今回の検討で正常婦人と子宮内膜症患者の間質細胞の間にM-CSFに対する反応、M-CSFレセプター発現に差異が認められた。この相違の原因は必ずしも明らかではないが、子宮内膜症患者の子宮内膜間質細胞が正常のそれに比し、よりM-CSFによる増殖促進の影響を受けやすいことを示唆するものであり、子宮内膜症増悪の一因となっているものと解釈される。

今回の成績および文献的考察より、子宮内膜症患者腹水中に増加している各種サイトカインが子宮内膜症の発症、増悪の一因となっていることは否定しえない。したがって、腹水中サイトカインの増加を抑えることにより、子宮内膜症の増悪を抑えうる可



能性が示唆された。現在、子宮内膜症の治療はホルモン療法が主体となっているが、今後、この観点から子宮内膜症の治療、ないし管理法に対する新しい方法開発への曙光を見い出せるものと考える次第である。

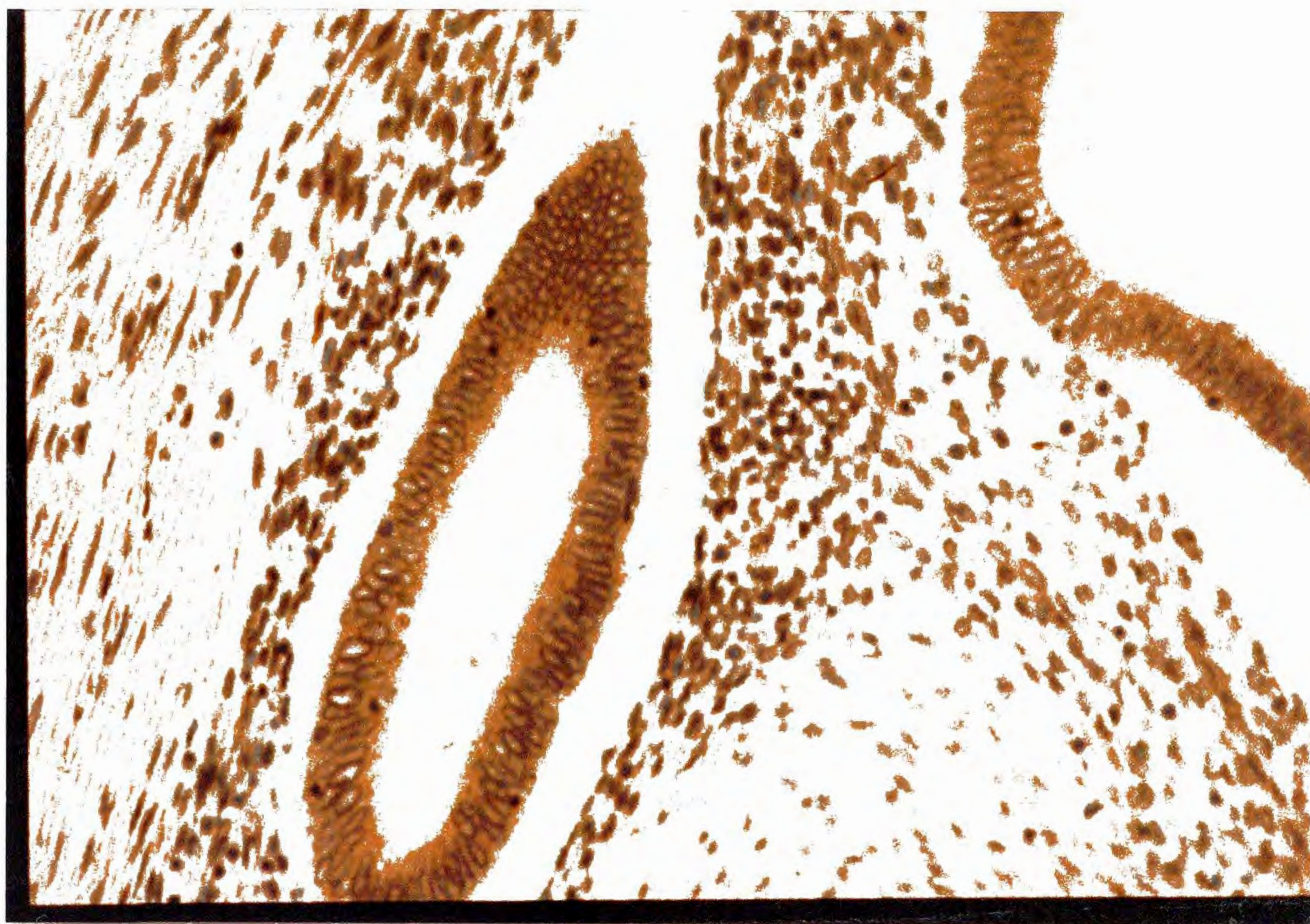
### 謝 辞

今回の研究にあたり、御指導いただきました産科婦人科学教室荻田幸雄教授、梅咲直彦助教授、ならびに御協力いただきました産科婦人科学教室医局員の皆様に深甚なる謝意をささげます。

また、御指導御鞭撻をいただきました第2生理学教室木下喜博教授に厚くお礼申し上げます。

さらに、器材の提供をいただいた富士薬品工業に深く感謝いたします。



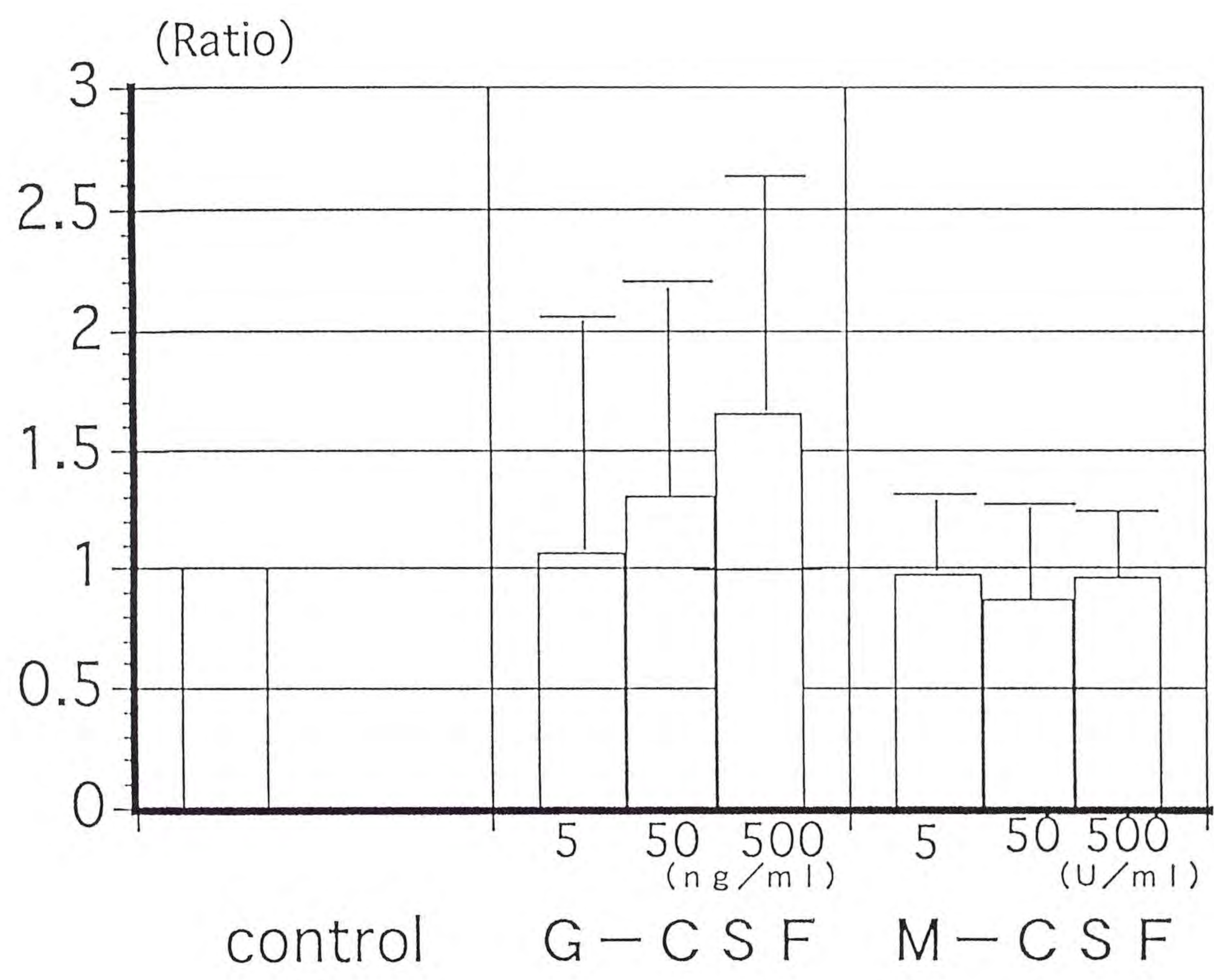


子宮内膜症組織の抗MMP-1染色

F i g . 1



G - C S F , M - C S F 添加による  
M M P - 1 産生の変化

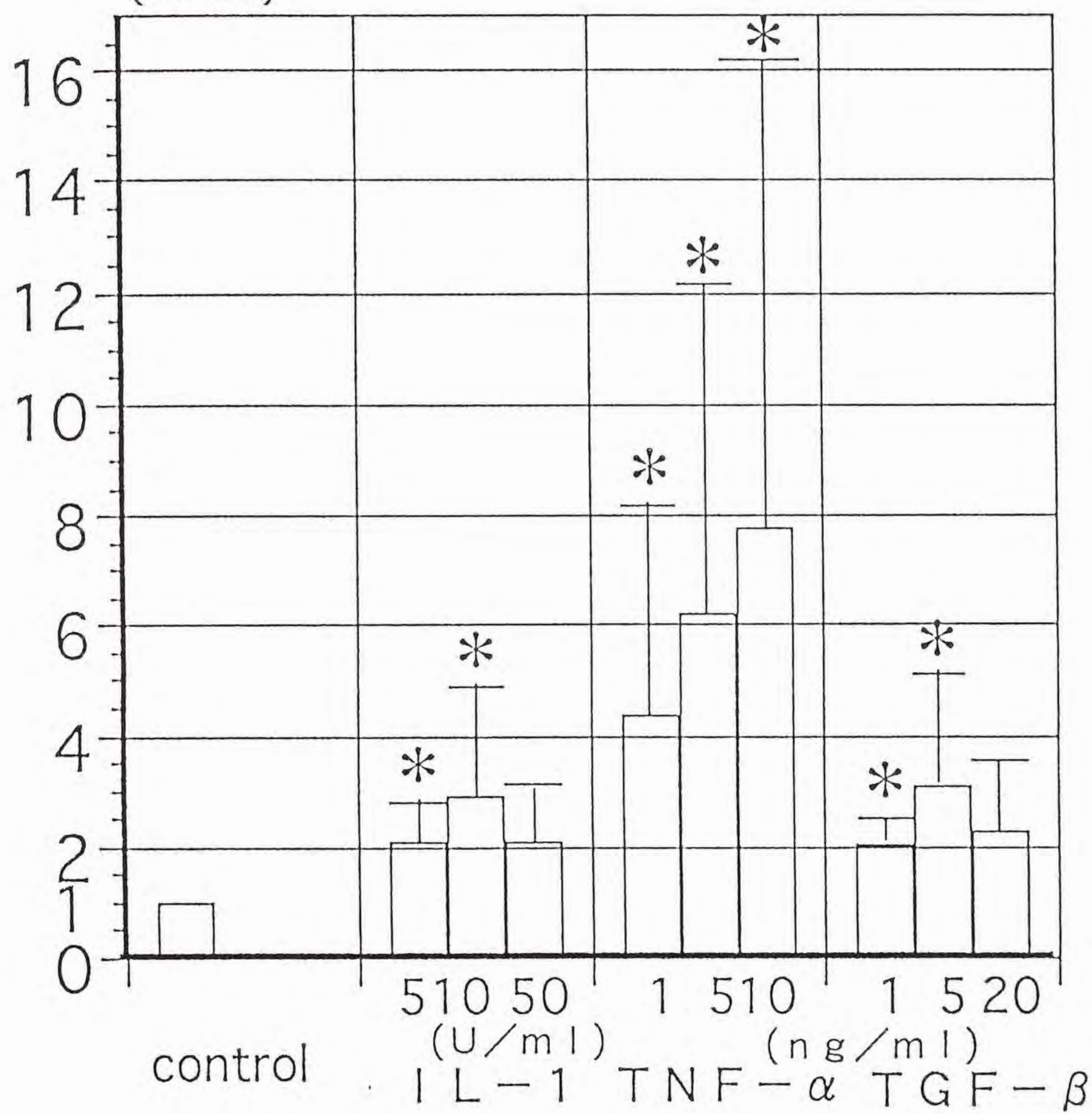


F i g . 2



# 各種サイトカイン添加による MMP-1 産生の変化

(Ratio)

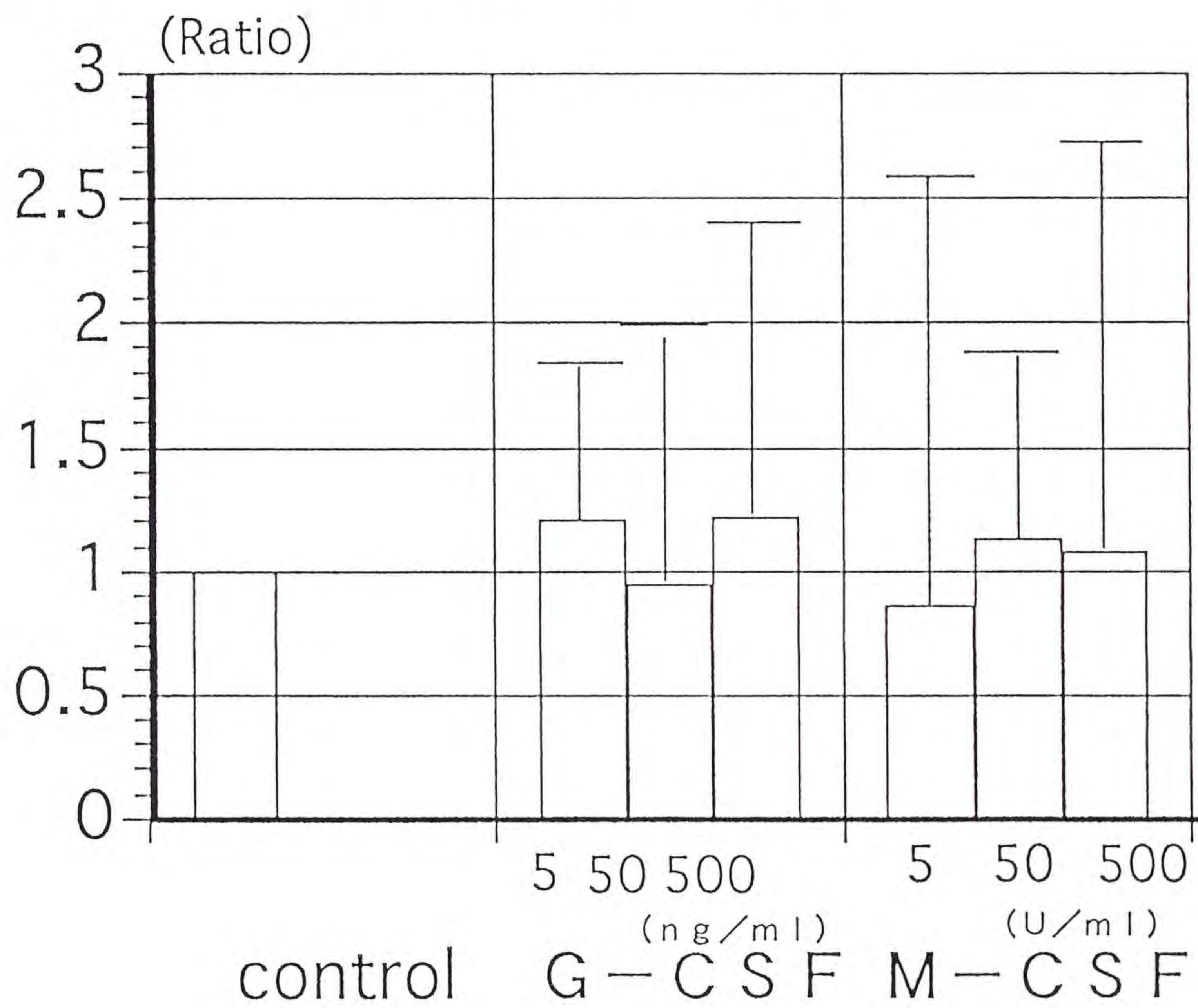


\*  
P < 0.05

Fig. 3



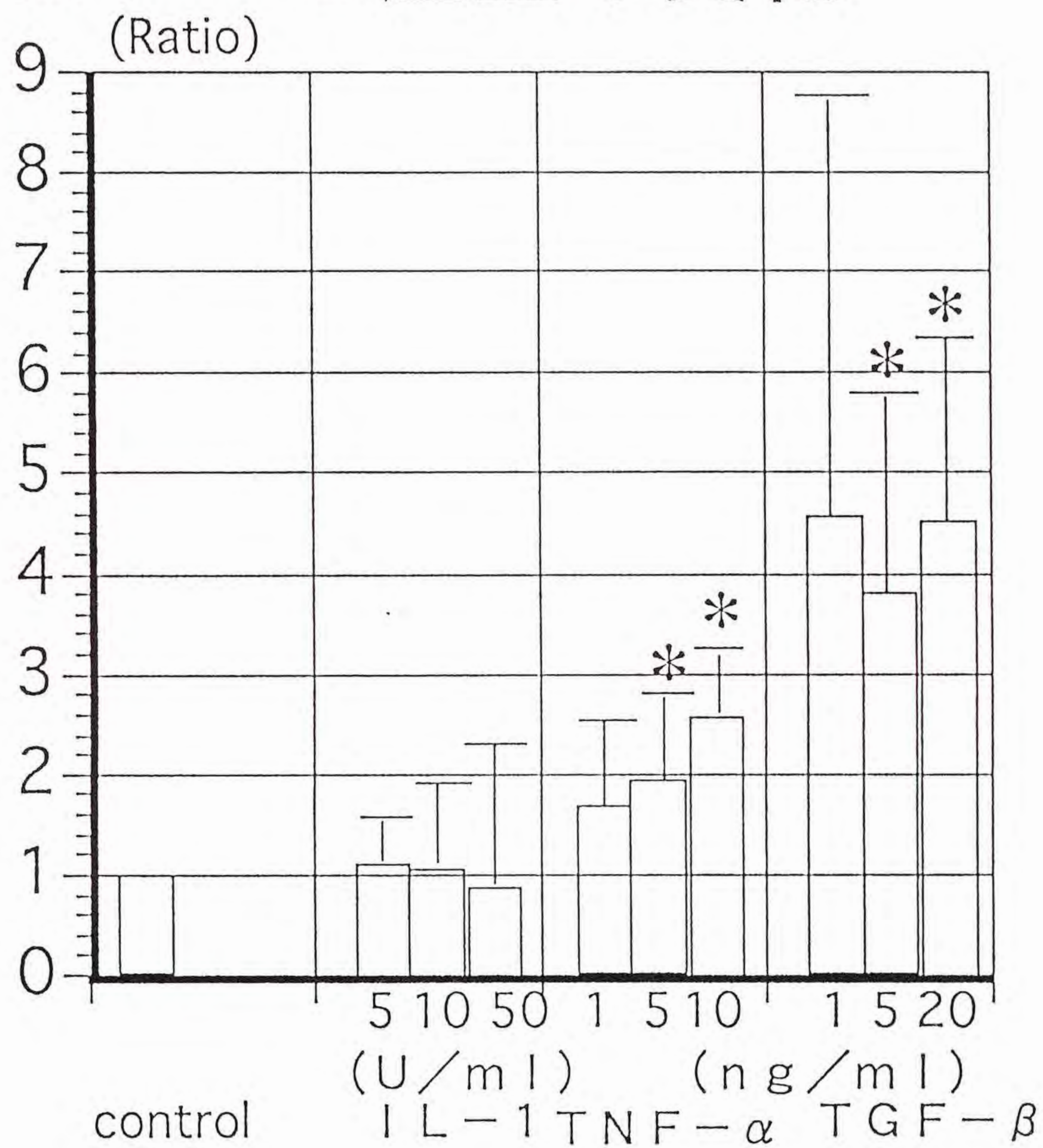
G-C S F, M-C S F 添加による  
M M P - 2 産生の変化



F i g . 4



# 各種サイトカイン添加による MMP-2 産生の変化



\*  
P < 0.05

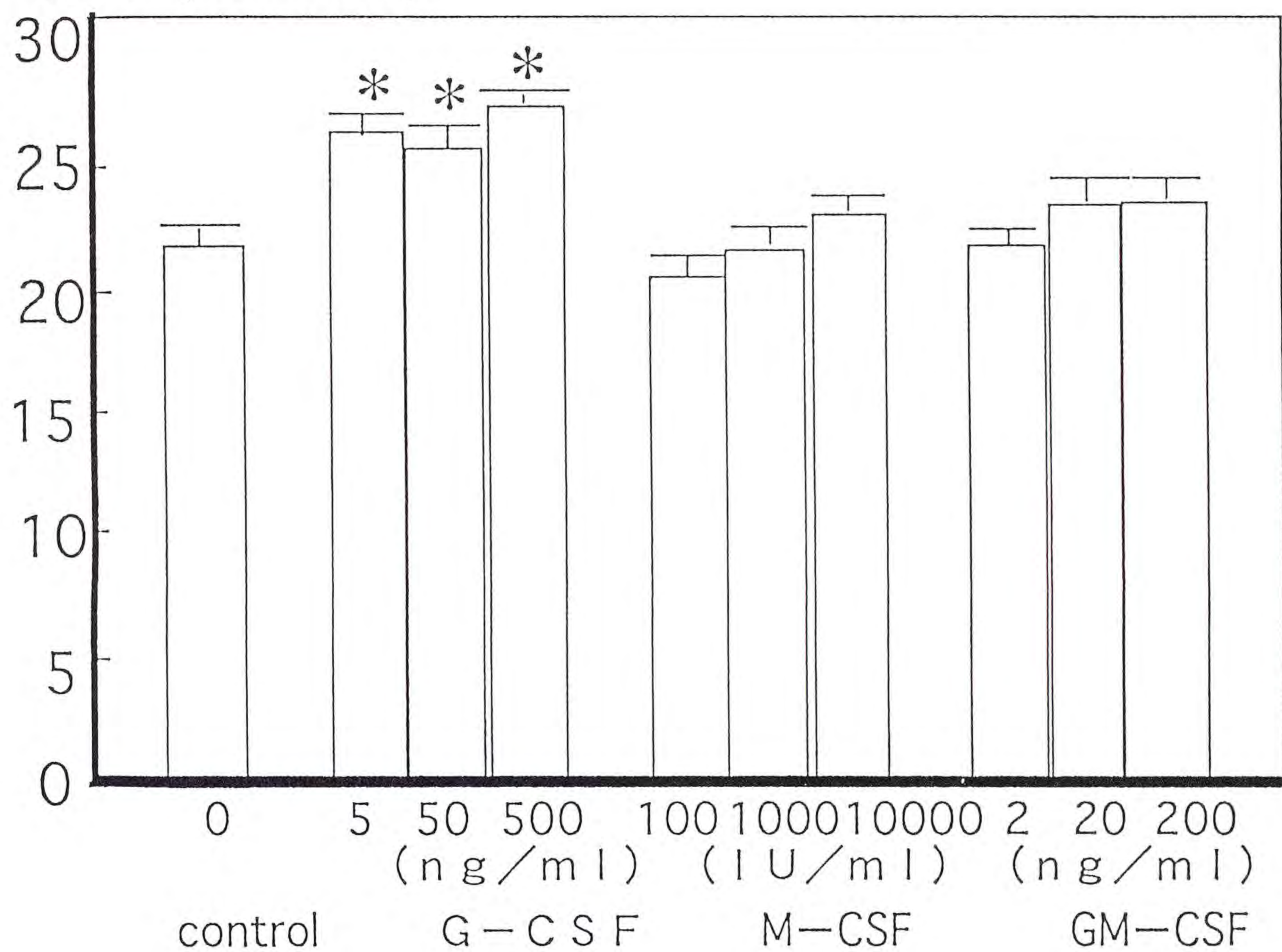
Fig. 5



# 正常婦人増殖期子宮内膜間質細胞の増殖に与える

## CSFの影響

CPM (×1000)

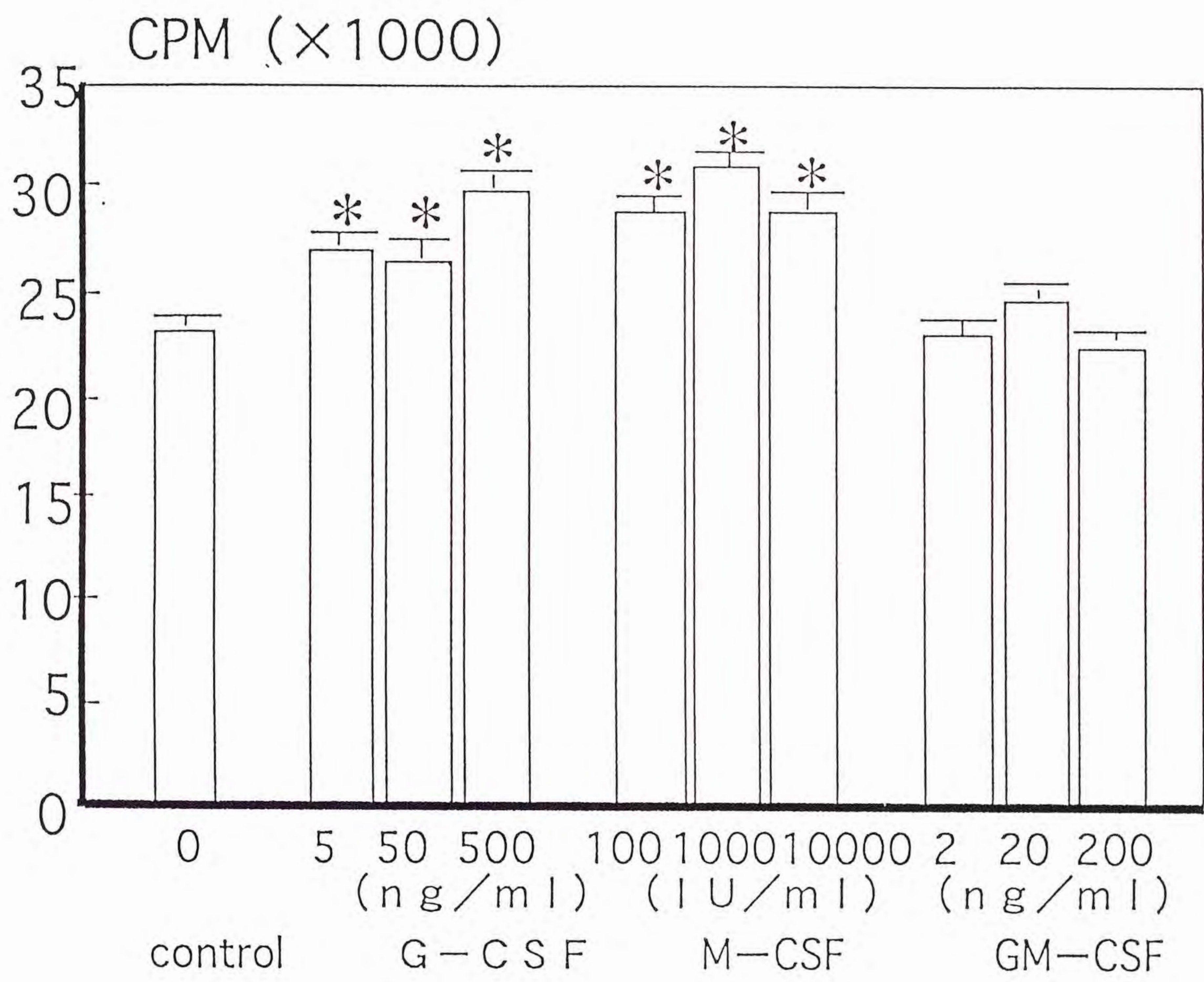


\*  
P < 0.01

Fig. 6



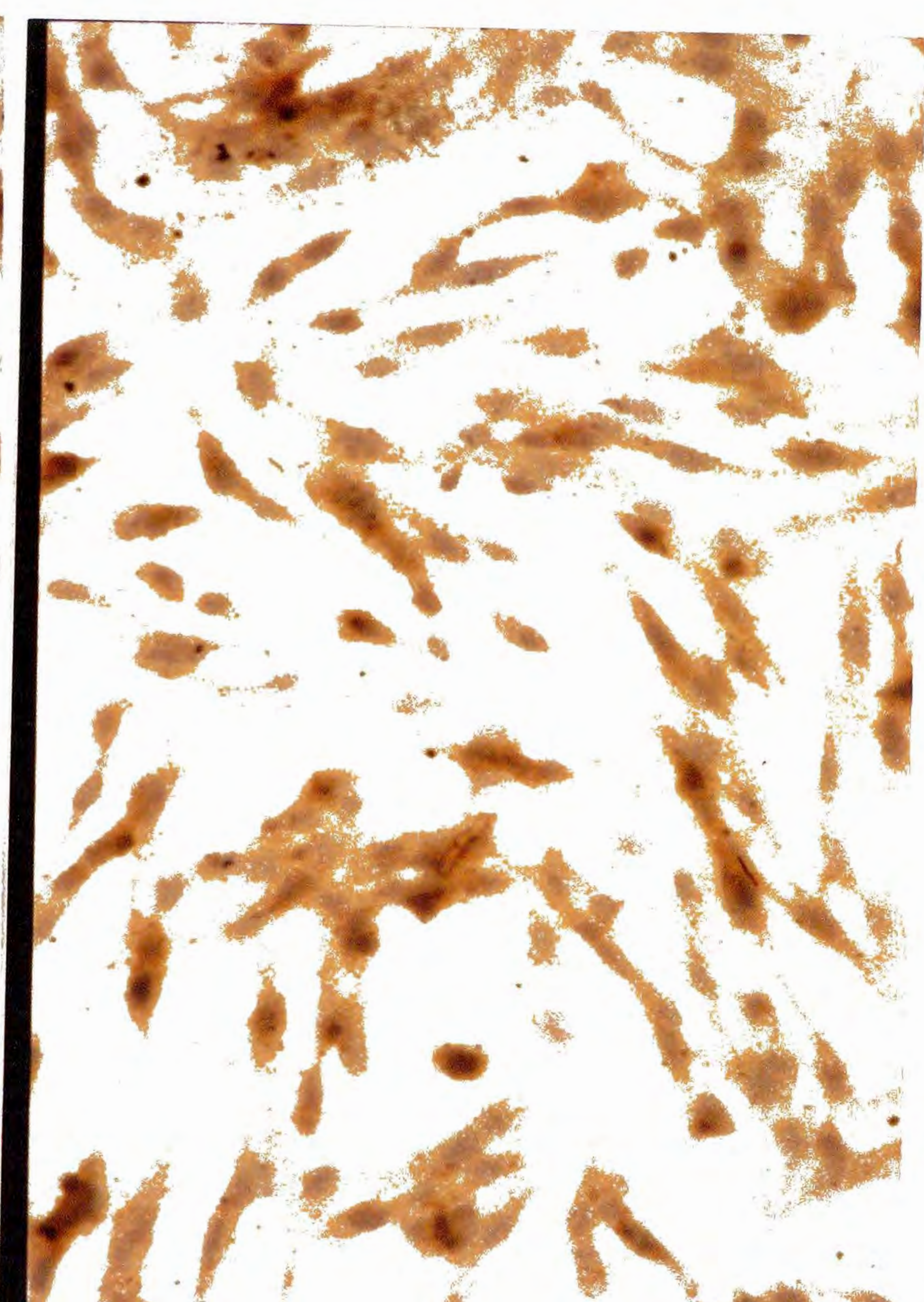
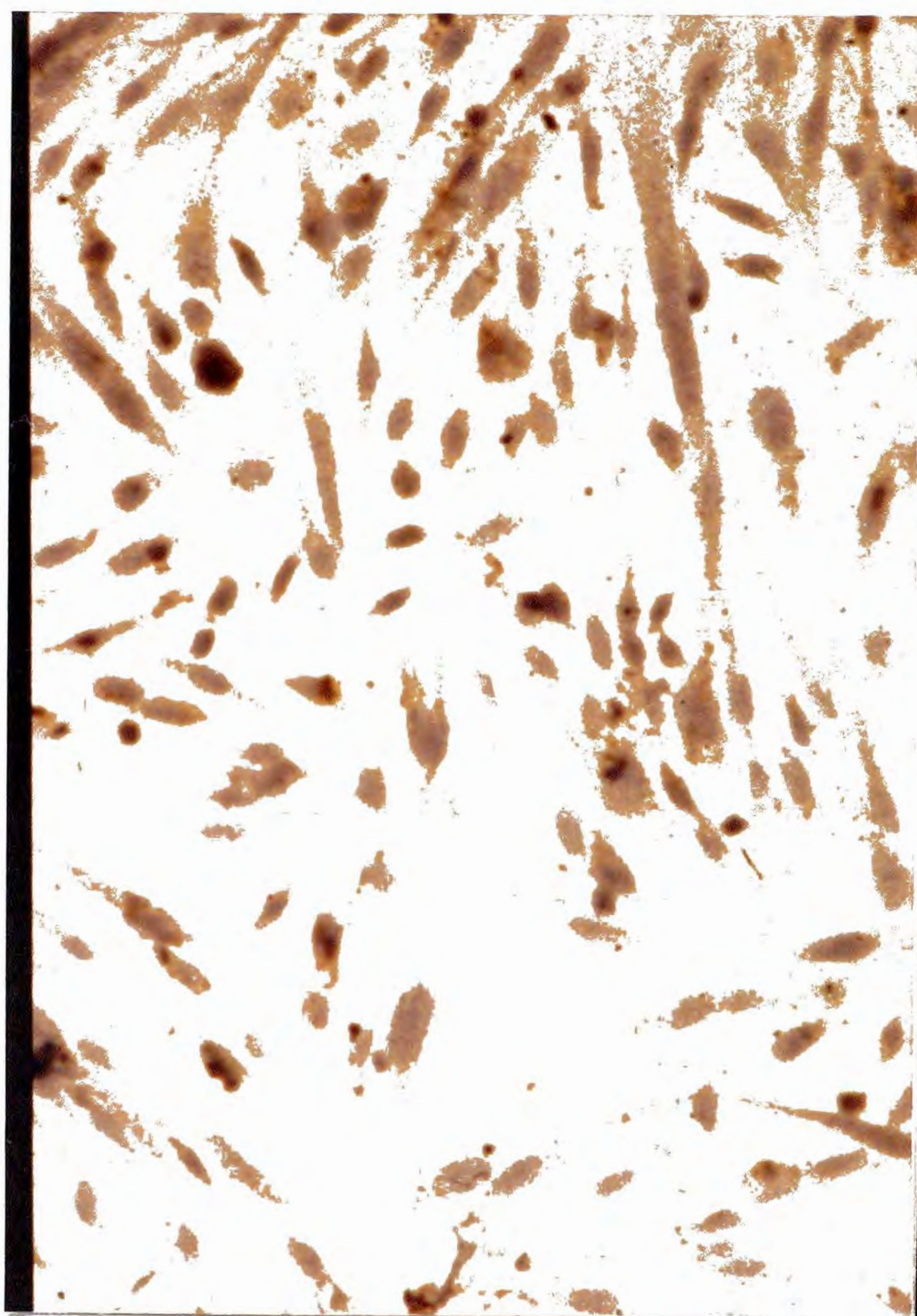
子宮内膜症患者子宮内膜間質細胞の増殖に与える  
各種CSFの影響



\*  
P<0.01

Fig. 7





正 常 婦 人

子 宮 內 膜 症 患 者

子 宮 內 膜 間 質 細 胞

子 宮 內 膜 間 質 細 胞

F i g . 8



## 参考文献

1. Sampson J A : A m . J . O b s t e t . G y n e c o l . 1 4 ,  
4 2 2 , 1 9 2 2 .
2. Liotta , L . A . , T r y g g v a s o n , K . , G a r b i s a ,  
S . , e t a l . : M e t a s t a t i c p o t e n t i a l  
c o r r e l a t e s w i t h e n z y m a t i c d e g r a t i o n  
o f b a s e m e n t m e m b r e m  
c o l l a g e n . N a t u r e , 2 8 4 : 6 7 ~ 6 8 , 1 9 8 0 .
3. 中島 元夫 : 転移に間与する細胞外マトリックス  
分解酵素、実験医学、Vol.10、No.4:37~43、  
1992.
4. Richard Poulson , Massimo  
Pignatelli , William G. Stetler -  
Stevenson , e t  
a l . : S t r o m a l E x p r e s s i o n o f 7 2 K d a  
T y p e I V C o l l a g e n a s e ( M M P - 2 ) a n d  
T I M P - 2 m R N A s i n C o l o r e c t a l  
N e o p l a s i a . A m J



Pathology, Vol. 141, No. 2: 389 ~  
396, 1992.

5. Taduru Sreenath, Lynn

M. Matrisian, William Stetler-

Stevenson, et al.: Expression of Matrix  
Metalloproteinase Genes in

Transformed Rat Cell Lines of High  
and Low Metastatic Potential. CANCER  
RESEARCH. 52, 4942 ~ 4947, 1992.

6. Bernerd Davies, Jonathan

Waxmann, Poalabel, et al.: Levels of  
Matrix Metalloproteinases in Bladder  
Cancer Correlate with Tumor Grade  
and invasion. CANCER RESEARCH  
53, 5365 ~ 5369, 1993.

7. J. Guy Lyons, Bente Birkedal-

Hansen, Milton C. Pierson, et



al.: Interleukin-1  $\beta$  and Transforming Growth Factor- $\alpha$  / Epidermal Growth Factor Induce Expression of Mr 95,000 Type IV Collagenase / Geratinase and Interstitial Fibroblast-type Collagenase by Rat Mucosal Kertinocytes. The Journal of Biological Chemistry, Vol. 268, No. 25, 19143 ~ 19151, 1993.

8. Hiroshi Sato, Takahisa

Takino, Yasunori Okada, et al.: A matrix metalloprotease expressed on the surface of invasive tumor cells, Nature, Vol. 370, 61 ~ 65, 1994.

9. Jean-Dominique Vassalli, Michael S.

Pepper, : Membrane proteases in focous, Nature, Vol. 370, 14 ~ 15, 1994.



10. Jukka Tienari, Liisa Pertovvara, Olli  
Saksela, et al, : INCREASED  
EXPRESSION OF THE MATRIX  
METALLOPROTEINASE 2 IN  
DIFFERENTIATING TERA 2 HUMAN  
EMBRYONAL CARCINOMA  
CELLS, Int. J. Cancer, 56, 219 ~  
223, 1994.

11. Hara S. Azzam, Gloria Arand, Marc  
E. Lippman, Erik  
W. Thompson, Association of MMP-2  
Activation Potential With Metastatic  
Progression in Human Breast  
Cancer Cell Lines Independant of  
MMP-2 Production, Journal of the  
National Cancer  
Institute, Vol. 85, No. 21, 1993.

12. J. Brice Wainberg, Arthur



F . H a n e y , F . J . X u , e t a l , : P e r i t o n e a l  
F l u i d a n d P l a s m a L e v e l s o f H u m a n  
M a c r o p h a g e C o l o n y - S t i m u l a t i n  
F a c t o r i n R e l a t i o n t o P e r i t o n e a l  
F l u i d M a c r o p h a g e  
C o n t e n t , B l o o d , V o l . 7 8 , N o . 2 , 5 1 3 ~  
5 1 6 , 1 9 9 1 .

1 3 . H a s a n F a k i h , B i l l y B a g g e t t , G a r y  
H o l t z , e t a l , : I n t e r l e u k i n - 1 : a p o s s i b l e  
r o l e i n t h e i n f e r t i l i t y a s s o c i a t e d  
w i t h e n d o m e t r i o s i s , F e r t i l i t y a n d  
S t e r i l i t y , V o l . 4 7 , N o . 2 , 2 1 3 ~  
2 1 8 , 1 9 8 7 .

1 4 . J u e r g e n E i s e r m a n n , R a n d a l l R .  
O d e m , M i c h a e l J . G a s t , e t a l , : T u m o r  
n e c r o s i s f a c t o r i n p e r i t o n e a l f l u i d  
o f w o m a n u n d e r g o i n g l a p a r o s c o p i c  
s u r g e r y , F e r t i l i t y a n d



Sterility, Vol. 50, No. 4, 573 ~  
579, 1988.

15. Dider J. Oosterlynck, Christel

Meuleman, Mark Waer, et

al, : Transforming Growth Factor- $\beta$

Activity is Increased in Peritoneal

Fluid From Woman With

Endometriosis, Obstetrics and

Gynecology, Vol. 83, No. 2, 1994.

16. Van Le L., Oh S-T., Halme J., et

al, Interleukin-1 inhibit growth of

normal human endometrial stromal

cell in culture, Obstetrics and

Gynecology, Vol. 80, 405 ~ 409, 1992.

17. Hammond M G., Oh S-T., Halme J., et

al, : The effect of growth factors on

proliferation of human endometrial



stromal cells in culture, Am. J. Obstet. Gynecol., Vol. 168, 1131 ~ 1138, 1993.

18. Zang J., Noboru Fujimoto, Kazushi Iwata, et al.,: A one-step sandwich enzyme immunoassay for human matrix metalloproteinase 1 (interstitial collagenase) using monoclonal antibodies, Clinica Chimica Acta, 219, 1 ~ 14, 1993.

19. Noboru Fujimoto, Nobuko Mouri, Kazushi Iwata, et al.,: A one-step sandwich enzyme immunoassay for human matrix metalloproteinase 2 (72-kDa gelatinase/type IV collagenase) using monoclonal antibodies, Clinica Chimica Acta, 221, 91 ~ 103, 1993.



20. Surry E S., Halme J., et al, Effect of peritoneal fluid from endometriosis patients on endometrial stromal cell Proliferation invitro, Am. J. Obstet. Gynecol., Vol. 76, 792 ~ 797, 1990.
21. Yamagata S., Tanaka R., Ito Y., et al, : Gelatinases of metastatic cell lines of murine colonic carcinoma as detected by substrate-gel electrophoresis, Biochem. Biophys. Res. Commun., Vol. 158, 228 ~ 234, 1989.
22. Kato Y., Nakayama Y., Umeda M., et al, : Induction of 103-kDa gelatinase/type IV collagenase by acidic culture conditions in mouse metastatic melanoma cell lines, J. Biol. Chem., Vol. 267, 11424 ~



11430, 1992.

23. 岡田保典, :マトリックスメタロプロテイナーゼ  
の活性調節, 実験医学, Vo.10, No.4, 44~  
49, 1992.

24. 佐藤 博, 清木元治, :マトリックスメタロプロテ  
イナーゼおよびインヒビターの発現調節機構と  
癌転移, 実験医学, Vo.10, No.4, 51~  
58, 1992.

25. Wilhelm S.M., Collier I.E., Marmer  
B.L., et al, :SV-40-transformed human  
lung fibroblasts secrete a 92-kDa  
type IV collagenase which is  
identical to that secrete by  
normal human  
macrophages, J. Biol. Chem., 263.17213  
~17221, 1989.



26. Nakano A., Tani E., Miyazaki K., et

al.,: Expression of matrilysin and

stromelysin in human glioma cells,

Biochem. Biophys. Res. Commun.,

192, 999 ~ 1003, 1993.

27. M. Martelli, A. Campana, P. Bichof,:

Secretion of metalloproteinases by

human endometrial cells in

vitro, Journal of Reproduction and

Fertility, 98, 67 ~ 76, 1993.

28. Marleen D.E.H. Spuijbroek, Gerard

A.J. Dunselman, Paul

P.C.A. Menheere, et al.,: Early

endometriosis invades the

extracellular matrix, Fertility and

Sterility, Vol. 58, No. 5, 1992.

29. Rook A.H., Kehrl J.H., Wakefield L.M., et



al,:Effects of transforming growth factor  $\beta$  on the functions of natural killer cells:Depressed cytolytic activity and blunting of interferon responsiveness,J.Immunol ,136,3916~3920,1986.

30.Didier J.Oosterlynck,Michel Vandeputte,Christel Meulaman,etal,:Angiogenic activity of peritoneal fluid from women with endometriosis,Fertility and Sterility,Vol.59,No.4,778~782,1993.